

温度及 AQDS 对氧化铁微生物还原过程的影响

张丽新, 曲 东, 易维洁

(西北农林科技大学 资源环境学院, 陕西 杨凌 712100)

【摘 要】 **【目的】**研究水稻土中微生物铁还原过程的温度效应, 揭示不同铁还原微生物的作用机理。**【方法】**采用 5 种水稻土为供试材料, 分别提取微生物群落或分离铁还原菌株; 以人工合成氧化铁作为惟一电子受体, 在无机盐培养体系中接种土壤浸提液或具有铁还原功能的菌株, 厌氧恒温培养; 通过对接种液的不同温度处理(40, 50, 60, 70 ℃)、对培养温度的控制(30 和 50 ℃)以及向体系中添加 AQDS, 探讨温度及 AQDS 对氧化铁微生物还原过程的影响。**【结果】**将来源于吉林、天津和湖南水稻土的浸提液在 40~70 ℃处理 1 h 后作为接种液, 随着处理温度的升高, 其 Fe(Ⅱ)产生量和反应速率均呈逐渐降低趋势。在 30 和 50 ℃培养温度下, 来源于吉林、天津和四川的 3 种水稻土微生物群落添加 AQDS 可使 Fe(Ⅲ)还原的反应速率常数增加 10%~288%, 而温度变化的增加幅度仅为 6%~17%; 对分离自四川和江西水稻土中的 6 株铁还原菌的纯培养试验发现, 菌株 JX-a08 的 Fe(Ⅱ)最大累积量、还原速率常数、最大反应速率及铁还原率均随培养温度的升高明显增加, 表明菌株 JX-a08 更适于在 50 ℃下生长。**【结论】**于 40~70 ℃升温处理后, 来源于吉林、天津和湖南水稻土微生物群落的铁还原能力受到一定程度抑制; 添加 AQDS 可显著增加来源于吉林、天津和四川水稻土的 3 种微生物群落的铁还原反应速率; 在 6 株铁还原菌的纯培养试验中发现了 1 株更适于在 50 ℃下生长的菌株。

【关键词】 温度; 水稻土; 厌氧培养; 微生物的铁还原

【中图分类号】 S154.34

【文献标识码】 A

【文章编号】 1671-9387(2009)03-0193-07

Effect of temperature and AQDS on ferric oxide microorganism reduction process

ZHANG Li-xin, QU Dong, YI Wei-jie

(College of Resource and Environment, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: **【Objective】** Based on the study of the effect of temperature on ferric oxide microorganism reduction process in paddy soil, the paper gave a theoretical principle for different ferric microorganism reductions. **【Method】** 5 kinds of paddy soil treatments were studied, then each microorganism biocoenosis was extracted or bacterial strain was dissociated. Artificial synthesis ferric oxide was considered only electron acceptor, which inoculated soil leaching liquor or bacterial strain with reduction function in mineral salt culture system under anaerobic constant temperature condition. After different temperature treatments towards leaching liquor, temperature was controlled and AQDS added into culture system in order to discuss the effect of temperature and AQDS on ferric oxide microorganism reduction process. **【Result】** The inoculation liquor was made from leaching liquor in Jilin, Tianjin and Hunan paddy soil under 40—70 ℃ condition for 1 h, as temperature rose, the accumulation amount of Fe(Ⅱ) and reaction rate decreased gradually. After comparison of 30 and 50 ℃ treatments, AQDS were added into 3 kinds of microorganism biocoenosis from Jiling, Tianjin and Sichuan paddy soil, and it showed that AQDS could accelerate the reduction

* [收稿日期] 2008-04-28

[基金项目] 国家自然科学基金项目(40741005); 西北农林科技大学创新团队项目

[作者简介] 张丽新(1981—), 男, 山西静乐人, 在读硕士, 主要从事土壤环境化学研究。

[通信作者] 曲 东(1960—), 男, 河南陕县人, 教授, 博士生导师, 主要从事土壤环境化学研究。E-mail: dongqu@nwsuaf.edu.cn

of Fe(Ⅲ) 10%—288%, meanwhile, temperature could accelerate the reduction of Fe(Ⅲ) 6%—17%. In axenic culture treatment of 6 kinds of bacterial strains from Sichuan and Jiangxi paddy soil, the maximum accumulation amount of Fe(Ⅱ) reduction rate was constant, the maximum reaction rate and ferric reduction rate of ferric strain JX-a08 all increased as temperature rose, which showed that bacterial strain JX-a08 were suitable to 50 °C. 【Conclusion】 As temperature increased from 40 to 70 °C, ferric reduction capacity of microorganism biocoenosis from Jilin, Tianjin and Hunan paddy soil were restrained to a certain extent. Adding AQDS could increase ferric reduction rate of microorganisms biocoenosis from Jilin, Tianjin and Sichuan paddy soil significantly. In axenic culture treatment of 6 kinds of bacterial strain experiments from Sichuan and Jiangxi paddy soil, a bacterial strain was suitable to 50 °C.

Key words: temperature; paddy soil; anaerobic incubation; ferric reduction of microorganism

温度是影响微生物生长和生存的环境因素之一, 异化铁还原反应属于微生物参与介导的酶促氧化还原反应, 因而异化铁还原过程必然受到温度的影响。地球化学证据表明, Fe(Ⅲ) 还原可能是地球上最早的呼吸形式之一, 是除了早期地球之外其他热生境(hot biosphere)中重要的生物过程^[1-2]。有研究发现, 具有异化 Fe(Ⅲ) 还原能力是嗜高温古生菌和细菌的普遍特征^[3]。已有的资料表明, 不同温度环境中均有异化铁还原微生物的存在。在温度低至 4 °C 左右的环境和温度高达 121 °C 的环境中, 均存在异化铁还原微生物^[4-5]。对于特定环境中的异化铁还原反应而言, 温度可以以两种相反的方式影响微生物体, 其中当温度升高时, 细胞内的化学和酶促反应都可以以较快的速度进行, 微生物的生长也加快; 但是超过特定的温度, 蛋白质、核酸及细胞组分受到不可逆转的伤害, 反应速率便降低。理想温度条件下的异化铁还原过程已经被广泛研究, 其中有研究表明, 温度对异化铁还原菌生长及铁还原的影响基本一致^[6-8]。另有研究发现, 腐殖质也可以促进 Fe(Ⅲ) 氧化物的还原。腐殖质是沉积物环境中含量丰富且稳定存在的一类复杂有机物, 由于其结构复杂, 实验室中常用其同类物蒽醌-2, 6-二磺酸盐(anthraquinone-2, 6-disulfonate, AQDS)来研究腐殖质在异化铁还原中的作用。有关研究发现, Fe(Ⅲ) 还原微生物, 如 *Geobacter metallireducens* 和 *Shewanella algaju*, 均可利用 AQDS 作为电子穿梭物质, 在微生物与金属氧化物之间高效地传递电子, 促进铁的异化还原过程^[9]。以往对氧化铁微生物还原过程中温度效应的研究相对较少, 本研究以水稻土为试验材料, 采用土壤浸提液厌氧培养方法, 探讨温度及 AQDS 对水稻土中氧化铁还原, 及水稻土微生物群落对非晶体氧化铁(ferrihydrite)还原过程的影响; 并以典型铁还原菌的纯培养试验, 研究铁还原菌

株对温度的耐受性, 为深入认识水稻土中氧化铁的微生物还原过程及其影响因素提供必要的理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试土壤

供试水稻土分别于 2002~2004 年采自吉林省吉林市丰满区前二道乡河东村(用 JL 表示)、天津市塘沽区四道桥农场(用 TJ 表示)、江西省安福县竹江乡(用 JX 表示)、四川省邛崃市回龙镇(用 SC 表示)和湖南省宁乡县城郊村(用 HN 表示)。采集 0~20 cm 耕层土样, 自然风干后磨细, 过孔径 1 mm 土壤筛, 置于聚乙烯容器中保存。JL、TJ、JX、SC 及 HN 水稻土的有机质含量分别为 41.2, 20.4, 23.9, 48.9 和 20.9 g/kg; 无定形铁含量分别为 4.94, 2.03, 1.94, 3.08 和 3.75 g/kg; 游离铁含量分别为 10.01, 10.68, 6.48, 11.69 和 27.05 g/kg; pH 分别为 4.85, 7.85, 4.84, 7.34 和 5.37。

1.2 菌种来源

供试的 6 个具有铁还原功能的菌种分别从四川及江西水稻土中分离纯化获得, 菌株编号分别为: SC-a04、SC-a11、SC-a20、JX-a03、JX-a08 及 JX-a17。

1.3 试验内容及方法

1.3.1 不同温度对水稻土微生物群落 Fe(Ⅲ) 还原能力的影响 将风干过 1 mm 筛的供试水稻土(JL、TJ 及 HN)以 $m(\text{水稻土}):V(\text{去离子水})=1:9$ 的比例, 在 30 °C 下淹水培养 2 周, 培养期间不定期摇匀。将培养后的土壤悬液分别在 40, 50, 60, 70 °C 水浴锅中加热处理 1 h, 然后在 700 r/min 下离心 10 min, 收集上清液作为接种液, 分别加入 1 mL 人工合成的 $\text{Fe}(\text{OH})_3$ (ferrihydrite)^[10] (含铁量为 616.1 mg/L) 和 1 mL 氯化铵(5 mg/mL NH_4Cl), 加盖于 121 °C 高温灭菌 30 min, 冷却后, 分别加入过细菌滤

器($<0.22\ \mu\text{m}$)的葡萄糖(glucose)1 mL、磷酸盐混合液(含 25 mmol/L $\text{K}_2\text{HPO}_4\text{-KH}_2\text{PO}_4$ 缓冲液,控制体系的 pH 值为 7.0)1 mL 和接种液 1 mL,盖上橡胶塞后充 N_2 约 5 min 以除去瓶中的 O_2 ,加铝盖密封,置于 30 °C 恒温箱中培养,并定期采集悬液,测定 Fe(II) 质量浓度。依据微生物反应动力学方程,拟合铁还原过程的动力学参数。

1.3.2 不同温度下 AQDS 对水稻土微生物群落 Fe(III) 还原的影响 采用来源于吉林、天津和四川的水稻土浸提液为微生物接种液,以人工合成的 Fe(OH)_3 (ferrihydrite)为惟一电子受体,在若干 10 mL 的血清瓶中分别加入 1 mL 人工合成的 Fe(OH)_3 (含铁量为 358.12 mg/L)悬液,加盖于 121 °C 高温灭菌 30 min,冷却后,分别加入过细菌滤器($<0.22\ \mu\text{m}$)的氯化铵(5 mg/mL)和葡萄糖(50 mg/mL)混合溶液、25 mmol/L 磷酸盐($\text{K}_2\text{HPO}_4\text{-KH}_2\text{PO}_4$ 缓冲液)、微生物接种液和 1 nmol/L AQDS 各 1 mL(CK 为不添加 AQDS),充 N_2 除去瓶中 O_2 ,密封,分别置于 30 和 50 °C 恒温培养箱中暗光培养,定期采样测定 Fe(II) 的质量浓度,依据微生物反应动力学方程,拟合铁还原过程的动力学参数。

1.3.3 纯培养条件下温度对不同铁还原菌株 Fe(III) 还原特征的影响 选择 1.2 中 6 种具有铁还原功能的菌株,接种于 LB 液体培养基中,30 °C 厌氧扩繁 1 d,将培养后的菌种管于 3 000 r/min 离心 15 min,弃上清液,沉淀用无菌水洗涤 2 次,再用适量无菌水悬浮制得接种液。在 10 mL 血清瓶中加入人工合成的 Fe(OH)_3 (ferrihydrite)悬液(含铁量为 314 mg/L)和 5 mg/mL 氯化铵各 1 mL,加盖后于 121 °C 灭菌 30 min,冷却后开盖,分别加入过孔径 0.22 μm 滤膜(除菌)的葡萄糖和 25 mmol/L pH 7.0 磷酸缓冲液各 1 mL,最后接种上述 6 种菌液 1 mL,通 N_2 除去瓶中 O_2 ,加盖密封,分别置于 40 和 50 °C 恒温培养箱中暗光培养。培养过程中定期采样,测定体系中的 Fe(II) 质量浓度,依据微生物反应动力学方程拟合铁还原过程的动力学参数。

1.4 采样及 Fe(II) 质量浓度测定方法

采样时,各处理取出 1 瓶充分摇匀,用自动加样器吸取 1 mL 悬液置于含 4 mL 浓度为 0.5 mol/L 的盐酸溶液中浸提,设 3 个重复,置于 30 °C 培养箱中浸提 24 h 后^[11],用孔径 $<0.22\ \mu\text{m}$ 滤膜过滤。定量吸取滤液,用邻菲罗啉分光光度法测定 Fe(II) 质量浓度^[12]。

1.5 数据统计方法

由于异化 Fe(III) 还原是微生物介导的生物学过程,与微生物的生长密切相关,所以可用描述微生物生长的 Logistic 方程,拟合描述 Fe(III) 还原过程的产物 Fe(II) 质量浓度的变化。

Logistic 方程的数学表达式为: $Y_t = a/(1 + be^{-at})$ 。式中: t 为培养时间, Y_t 为 t 时刻 Fe(II) 质量浓度(mg/L), a 为体系中 Fe(II) 的最大累积量, b 为模型参数, c 为反应的速率常数。用参数 a 和 c 可求出最大反应速率 $V_{\max}$,其数值等于 $0.25ac$;最大还原速率对应的时间($T_{V_{\max}}$)用 $\ln b/c$ 计算; Fe(III) 的还原速率为 Fe(II) 最大累积量和加入 Fe(OH)_3 量的比值, R^2 表示决定系数。

2 结果与分析

2.1 不同温度对水稻土微生物群落 Fe(III) 还原能力的影响

2.1.1 不同温度下水稻土微生物群落对 Fe(III) 的还原能力 来源于 JL、TJ 和 HN 水稻土的 3 种微生物群落,经过不同温度处理后对 Fe(OH)_3 的还原能力如图 1 所示。由图 1 可见,随着处理温度的上升, Fe(II) 产生量和反应速率呈降低趋势。当接种液的处理温度从 40 °C 升高到 50 °C 时,3 种微生物群落的 Fe(II) 产生量稳定值与初始加入的 Fe(OH)_3 质量浓度(616.1 mg/L)比较接近,说明在处理温度为 50 °C 时,铁还原反应能正常进行,只是反应速率有所降低,达到 Fe(II) 最大铁还原量所用的时间滞后了 5 d 左右;当温度再升至 60 °C 时,除了来自 JL 水稻土的微生物群落还能继续维持较高水平的铁还原量外,其他 2 种微生物群落的 Fe(III) 还原过程已经受到明显抑制,最终 Fe(II) 产生量均处在一个较低的水平,同时达到 Fe(II) 产生量稳定值所用的时间相对于 50 °C 又滞后了 6 d 左右;当温度升至 70 °C 时,3 种微生物群落的 Fe(II) 产生量均下降到一个很低的水平,仅为 40 °C 处理的 1/5 左右,表明该温度对铁还原过程具有明显的抑制作用。另外,从图 1 也可以看出,来源于吉林水稻土的微生物群落对温度最敏感。

2.1.2 不同微生物群落不同温度下的 Fe(OH)_3 还原特征参数 用 Logistic 方程拟合不同微生物群落在不同温度下的 Fe(OH)_3 还原过程参数,结果见表 1。由表 1 可知,当处理温度从 40 °C 升高到 50 °C 时, Fe(II) 的最大累积量(a)有所提升;而当温度继续升高到 60 和 70 °C 时, Fe(II) 的最大累积量呈

明显的降低趋势;对于来源于吉林水稻土的微生物群落而言,处理温度为 70 ℃ 的 α 值比 40 ℃ 时降低了 81.57%,而来源于天津和湖南水稻土的微生物群落分别降低了 81.83%和 74.77%。处理温度的变化对 Fe(Ⅱ) 的累积速率常数(c)也有明显影响。对于来源于吉林水稻土的微生物群落而言,处理温度为 70 ℃ 的 c 值为 0.392 d^{-1} ,较温度为 60,50 和

40 ℃ 时分别降低了 9.3%,13.47%和 31.35%;对于来源于天津水稻土的微生物群落,分别降低了 15.16%,57.99%和 28.6%;对于来源于湖南水稻土的微生物群落,分别降低了 4.4%,50.98%和 62.83%。另外,处理温度的变化对最大累积速率($V_{\max}$)和铁还原率也有明显影响,随着处理温度的升高均呈下降趋势。

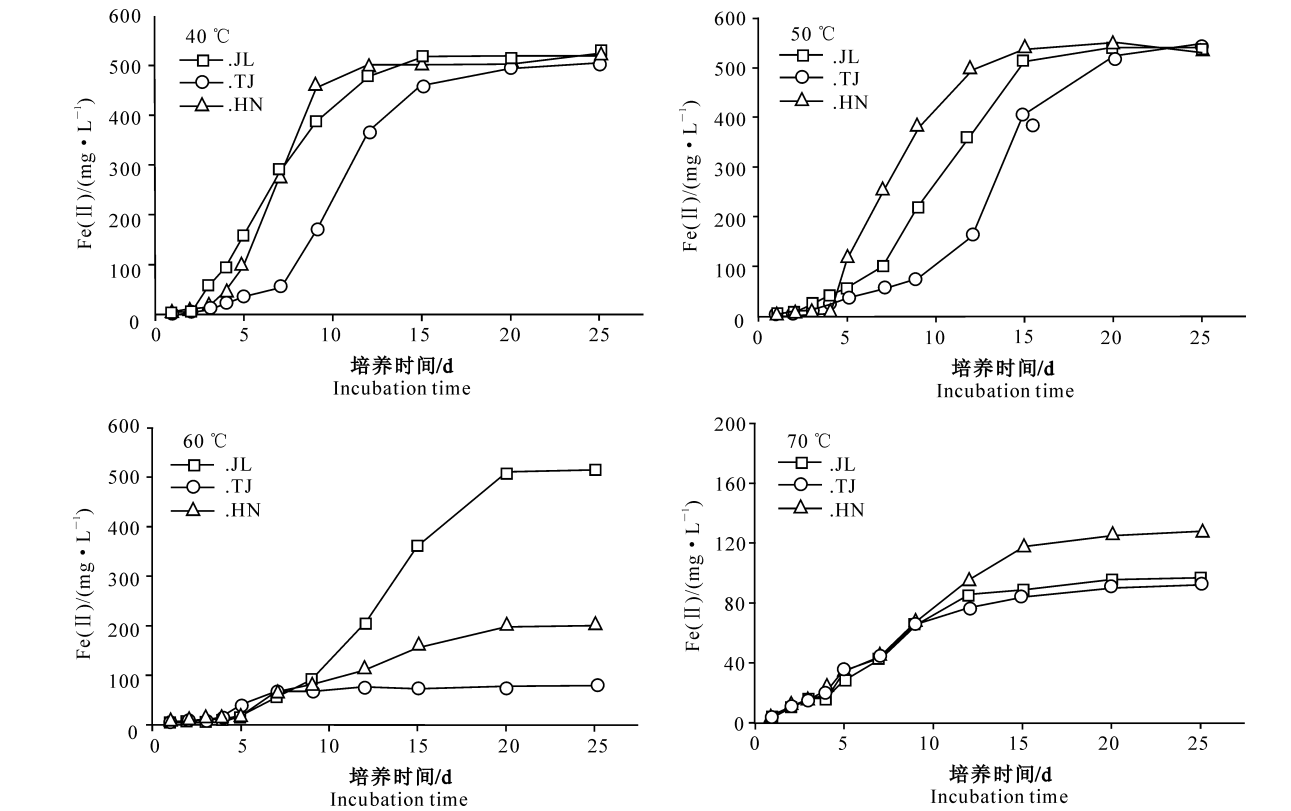


图 1 不同温度对水稻土微生物群落 Fe(Ⅲ)还原能力的影响

Fig. 1 Effect of different temperature on Fe(Ⅲ) reduction ability in microorganism biocoenosis paddy soil extract incubation

表 1 微生物群落培养中不同微生物群落在不同温度下的 Fe(OH)₃ 还原过程动力学参数

Table 1 Kinetics parameters of Fe(OH)₃ reduction incubation of different temperature microorganisms biocoenosis in co-culture incubation treatment

微生物群落 Microbe	温度/℃ Temperature	Logistic 方程参数 Logistic model parameter			$V_{\max}/$ ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)	Fe(Ⅲ)还原率/% Reduction rate
		$a/(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	c/d^{-1}	R^2		
JL	40	513.989	0.571	0.998	73.352	83.43
	50	543.212	0.453	0.999	61.472	88.17
	60	528.613	0.432	0.999	51.786	85.80
	70	94.733	0.392	0.998	10.229	15.38
TJ	40	499.251	0.556	0.999	69.392	81.03
	50	550.301	0.945	0.996	64.338	89.32
	60	76.123	0.468	0.995	17.979	12.36
	70	90.736	0.397	0.996	9.008	14.73
HN	40	508.155	0.877	0.999	111.413	82.48
	50	533.792	0.665	0.996	88.704	86.64
	60	202.458	0.341	0.992	16.485	32.86
	70	128.208	0.326	0.998	10.916	20.81

2.2 不同温度条件下添加 AQDS 对水稻土微生物群落 Fe(Ⅲ)还原的影响

分别以 JL、TJ、SC 水稻土浸提液作为微生物接种液,以微生物易于利用的 Fe(OH)₃ 为惟一电子受

体,以葡萄糖为惟一碳源,在试验体系中添加 AQDS 后,分别置于 30 和 50 ℃下培养,研究在不同温度条件下 AQDS 对异化铁还原过程的影响,结果见图 2。

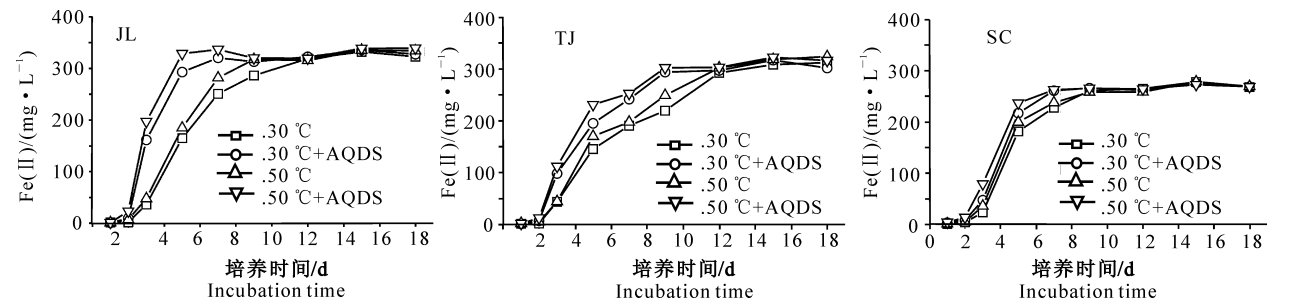


图 2 不同温度条件下 AQDS 对水稻土微生物群落 Fe(Ⅲ)还原的影响

Fig. 2 Effect of AQDS on ferric reducing microorganisms on Fe(OH)₃ reduction in paddy soil under different temperature

由图 2 可看出,来自 JL、TJ 和 SC 水稻土的微生物群落均对 Fe(OH)₃ 有很好的还原能力。各处理中无论异化铁还原发生早或晚、速率快或慢,Fe(Ⅱ)质量浓度均能达到一个稳定水平,而且 Fe(Ⅱ)质量浓度的稳定值与初始体系中 Fe(OH)₃ 质量浓度(358.12 mg/L)接近。

用表征微生物生长动力学的 Logistic 方程拟合的 Fe(Ⅲ)还原过程的参数见表 2。由表 2 可知,3 种水稻土微生物群落添加 AQDS 处理的 Fe(OH)₃ 还原速率常数(*c*)和最大反应速率(*V*_{max})均比 CK 有明显增加。对于来自吉林水稻土的微生物群落而言,在 30 ℃培养时,添加 AQDS 处理的 *c* 为 2.963 d⁻¹,是 CK 的 3.51 倍,*V*_{max} 为 244.96 mg/(L·d),是 CK 的 3.65 倍;在 50 ℃培养时,添加 AQDS 处理的 *c* 值和 *V*_{max} 分别是 CK(30 ℃)的 3.88 和 3.90 倍。对于 TJ 水稻土的微生物群落而言,在 30 ℃培

养时,添加 AQDS 处理的 *c* 值和 *V*_{max} 分别是对照的 1.55 和 1.53 倍;在 50 ℃培养时,添加 AQDS 处理的 *c* 和 *V*_{max} 分别是 CK(30 ℃)的 1.89 和 1.88 倍。对于 SC 水稻土的微生物群落而言,在 30 ℃培养时,添加 AQDS 处理的 *c* 和 *V*_{max} 分别是对照的 1.10 和 1.12 倍;在 50 ℃培养时,添加 AQDS 处理的 *c* 和 *V*_{max} 分别是 CK(30 ℃)的 1.12 和 1.14 倍。培养温度从 30 ℃升高到 50 ℃,JL、TJ 和 SC 水稻土微生物群落的 *c* 和 *V*_{max} 增加幅度分别为 17%和 20%,9%和 12%,6%和 5%,表明温度增加的效应远不如添加 AQDS。在 3 种微生物群落中,JL 水稻土的微生物对温度和 AQDS 均比较敏感,其 Fe(Ⅱ)质量浓度的增加速率较大。对于易还原的 Fe(OH)₃ 来说,AQDS 的作用主要是提高了 Fe(OH)₃ 还原反应的速率。

表 2 不同温度条件下添加 AQDS 后不同微生物群落的 Fe(OH)₃ 还原过程动力学参数

Table 2 Kinetics parameters of microorganisms Fe(OH) ₃ reduction incubation AQDS under different temperature							
微生物群落 Microbe	处理 Treatment		Logistic 方程参数 Logistic model parameter			<i>V</i> _{max} / (mg·L ⁻¹ ·d ⁻¹)	Fe(Ⅲ)还原率/% Reduction rate
			<i>a</i> /(mg·L ⁻¹)	<i>c</i> /d ⁻¹	<i>R</i> ²		
JL	30℃	CK	317.8	0.845	0.995	67.14	88.75
		AQDS	318.9	2.963	0.996	244.96	89.05
	50℃	CK	325.5	0.991	0.998	80.73	90.90
		AQDS	330.7	3.282	0.998	261.75	92.35
TJ	30℃	CK	305.7	0.518	0.986	39.64	85.35
		AQDS	300.8	0.804	0.989	60.50	83.99
	50℃	CK	313.3	0.566	0.985	44.41	87.49
		AQDS	304.2	0.981	0.987	74.60	84.93
SC	30℃	CK	263.0	1.381	0.995	90.86	73.43
		AQDS	267.7	1.515	0.999	101.46	74.76
	50℃	CK	262.3	1.460	0.997	95.81	73.25
		AQDS	267.2	1.547	0.999	103.36	74.61

2.3 纯培养条件下不同温度对不同铁还原菌株还原 Fe(OH)₃ 的特征分析

将水稻土中分离的 6 株铁还原菌株分别在 40

及 50 ℃厌氧条件下恒温培养,Fe(Ⅱ)质量浓度随培养时间的变化如图 3 所示。

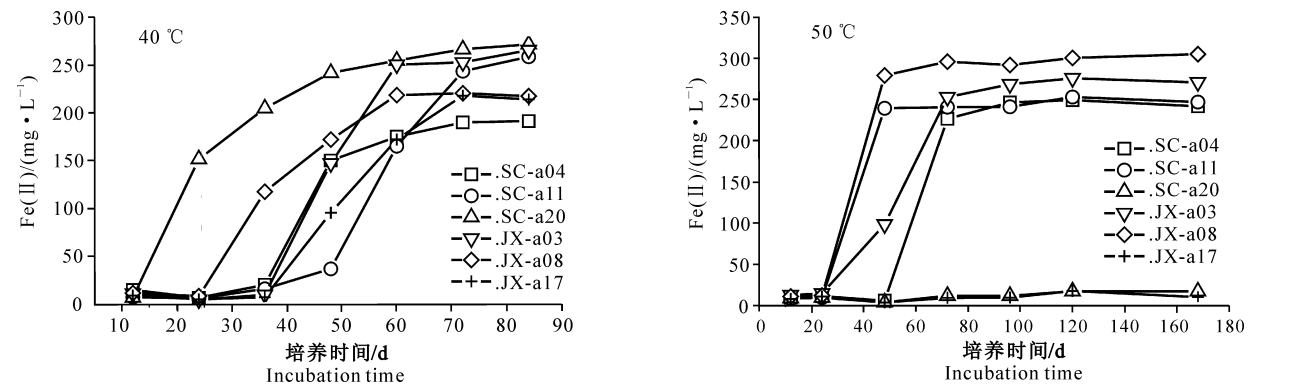


图 3 纯培养条件下温度对不同铁还原菌株还原 Fe(OH)₃ 的影响

Fig. 3 Effect of different temperature on ferric reducing microorganisms on Fe(OH)₃ reduction in axenic culture treatment

从图 3 可以看出,当菌株在 40 ℃培养时,6 个菌株 (SC-a04, SC-a11, SC-a20, JX-a03, JX-a08 及 JX-a17)均能进行铁还原反应,但反应速率有明显区别,其中 SC-a20 的反应速率最快,其次为 JX-a03, JX-a08、JX-a17 反应最慢;达到最大铁还原量所用的时间在 72 h 左右。当培养温度升高到 50 ℃时,菌株 JX-a17、SC-a20 基本停止反应,其他 4 株菌 (JX-a03、JX-a08、SC-a04、SC-a11)都有明显反应,且随着温度的升高反应速率明显加快,Fe(Ⅱ)的最大累积量也有不同程度增加,说明这 4 株菌在 50 ℃下不仅能进行正常的微生物代谢,而且较 40 ℃而言,其生

理活性也有明显提高,其中反应速率最快的是 JX-a08。说明对于 JX-a08 来说,50 ℃更适合其生长。

用表征微生物生长的 Logistic 方程拟合的纯培养条件下,Fe(Ⅱ)累积过程的动力学参数见表 3。从表 3 可以看出,对于菌株 JX-a08 和 SC-a04 而言,40 ℃时,Fe(Ⅱ)的最大累积量(*a*)分别为 222.975 和 186.319 mg/L;当温度升高到 50 ℃时,*a* 值较 40 ℃时分别增加了 33.86%和 33.12%。而对于菌株 JX-a03、SC-a11,当温度升高到 50 ℃时,*a* 值分别较 40 ℃时增加了 5.49%和 6.16%。

表 3 纯培养条件下 6 株铁还原菌的 Fe(Ⅱ)累积过程动力学参数

Table 3 Kinetics parameters of 6 ferric Fe(Ⅱ) accumulation process in axenic culture treatment

菌株 Strain	温度/℃ Temperature	Logistic 方程参数 Logistic model parameter			<i>V</i> _{max} / (mg · L ⁻¹ · h ⁻¹)	Fe(Ⅲ)还原率/% Reduction rate
		<i>a</i> /(mg · L ⁻¹)	<i>c</i> /d ⁻¹	<i>R</i> ²		
JX-a03	40	259.096	0.279	0.999	18.078	82.31
	50	273.320	0.119	0.999	8.112	86.82
JX-a08	40	222.975	0.119	0.981	6.644	70.83
	50	298.477	0.240	0.999	17.895	94.81
JX-a17	40	217.414	0.165	0.997	8.944	69.06
	50	14.334	0.013	0.459	0.046	4.55
SC-a04	40	186.319	0.321	0.996	15.695	59.19
	50	248.020	0.253	0.999	14.932	78.79
SC-a11	40	245.538	0.283	0.999	17.369	78.00
	50	260.660	0.184	0.999	11.990	82.80
SC-a20	40	261.095	0.306	0.986	19.996	82.94
	50	29.222	0.010	0.807	0.076	9.28

温度变化还可以影响铁还原菌株在异化铁还原过程中的还原率。由表 3 可知,菌株 JX-a08 和 SC-a04 在 40 ℃培养时,Fe(Ⅲ)的还原率分别为 70.83%和 59.19%;当温度升高到 50 ℃时,Fe(Ⅲ)的还原率分别达到了 94.81%和 78.79%,较 40 ℃

分别增加了 23.98%和 19.60%,表明增温有利于铁还原过程。对于菌株 JX-a03 和 SC-a11 而言,当温度升至 50 ℃时,Fe(Ⅲ)的还原率均有增加,但增加的幅度不明显。而对于菌株 JX-a17 和 SC-a20 而言,当温度升高到 50 ℃时,Fe(Ⅲ)的还原率则降低

了64.51%和73.66%,说明增温对铁还原有强烈的抑制作用。

温度变化也可以影响还原速率常数(c)和最大反应速率($V_{\max}$)。当培养温度从40℃升高到50℃时,除菌株JX-a08的 c 值从0.119 h⁻¹升高到0.240 h⁻¹外,菌株JX-a03、JX-a17、SC-a04、SC-a11和SC-a20的 c 值均有不同程度降低,分别降低了57%,92%,21%,35%和97%,其中菌株JX-a17和菌株SC-a20的降低幅度很大,说明50℃对这2株菌的活性影响较大。当培养温度从40℃升高到50℃,除菌株JX-a08的最大反应速率($V_{\max}$)从6.644 mg/(L·h)升高到17.895 mg/(L·h)、增加幅度为169.3%外,菌株JX-a03、JX-a17、SC-a04、SC-a11和SC-a20的最大反应速率分别降低了55%,99%,5%,31%和100%。综合Fe(II)的最大累积量(a)、还原速率常数(c)和最大反应速率($V_{\max}$)以及铁还原率等参数可以看出,菌株JX-a08在50℃的活性优于40℃,可初步推断其可能是嗜热菌。

3 讨论

温度是影响厌氧微生物生命活动过程的重要因素。与所有的化学反应和生物化学反应一样,厌氧微生物降解过程也受到温度和温度波动的影响。不同温度条件下,异化Fe(III)还原微生物群落结构会发生变化,而且这种变化不纯粹是由于不同微生物对生长温度的要求不同引起的,也必然涉及到温度对微生物代谢的影响。在沉积物环境或土壤中,温度的波动不会太大,因此温度可能主要是通过影响到微生物的代谢,以及环境中有机质的分解过程而影响到Fe(III)的还原过程^[13-14]。微生物都有一个最适宜生存的环境温度,在低温范围内升高温度会提高微生物体内酶的活性,从而提高铁还原反应的速率;而当温度超过一定值时,异化Fe(III)还原微生物群落结构、物种组成和生态功能会发生变化,微生物体内的某些酶活性也会降低,再持续升温会破坏微生物体内的蛋白质,核酸及细胞组分会受到不可逆转的伤害,因此,异化Fe(III)还原反应就会受到明显的抑制甚至停止。为了研究异化铁还原过程中微生物群落随温度的变化特征,本试验将来自不同地区的水稻土(吉林、天津、湖南)悬液在不同温度(40,50,60,70℃)下处理1h,然后添加Fe(OH)₃并在厌氧条件下培养,结果表明,随着处理温度的上升,Fe(II)的最大累积量和反应速率均呈降低趋势,70℃处理的Fe(II)产生量仅为40℃处理的1/5左

右,表明该温度对铁还原过程具有明显的抑制作用。另外,来自不同水稻土的微生物群落的铁还原过程也表现出明显差异:一方面,这可能是土壤悬液在温度处理过程中,由于水稻土的土壤类型不同所导致的,如吉林水稻土有机质含量高,为粘性土,土壤微生物都附着在土壤团聚体表面,这样在温度处理的时候,就会形成一个缓冲,对土壤微生物活性影响不大;而其他2种水稻土属于沙壤土,在制备接种液的过程中,土壤微生物大部分进入悬液中,这样再进行温度处理的时候,对微生物的活性影响就比较大;另一方面,与土壤的地带性分布也有密切关系。

腐殖质是沉积物和土壤中稳定存在的有机物聚积体。虽然腐殖质一直被认为对微生物引起的异化还原作用无明显促进作用,但有研究指出,微生物在非溶性氧化铁还原条件下氧化有机物质,可以通过添加腐殖质或酿族有机物来刺激该反应。腐殖质类物质在铁还原微生物、铁氧化物及有机物之间可以非生物性的转移电子给Fe(III)氧化物,使Fe(III)还原为Fe(II)。由于其所具有的这种电子穿梭性能,克服了铁还原菌与铁氧化物之间必须有物理性接触的限制条件,加速了铁还原。本研究通过微生物群落培养试验,在试验体系中加入AQDS,然后在不同温度(30和50℃)下培养,结果表明,AQDS在Fe(III)还原过程中作为电子穿梭体起传递电子的作用,加速了Fe(III)还原。另外当培养温度从30℃升高到50℃,除来自JL水稻土微生物群落的铁还原量和反应速率有所提高外,其他2种都没有明显变化,说明来自不同水稻土的微生物群落对温度的敏感性不同,其铁还原能力也有一定差别,这可能是由于不同区域的水稻土的地带性差异及土壤类型的不同所导致的。

本研究的纯培养试验结果表明,当培养温度从40℃升高到50℃时,菌株的活性受到了明显影响,且差异较大。这可能是由于本试验选用的菌株是在30℃下筛选出来的,这对菌株来说也是一个驯化的过程,因此有些菌株就失去了对温度的敏感性。

[参考文献]

- [1] Lovley D R, Holmes D E, Nevin K P. Dissimilatory Fe(III) and Mn(IV) reduction [J]. *Advance in Microbiology Physiology*, 2004, 49: 219-286.
- [2] Vargas M, Kashefi K, Blunt-Harris E L, et al. Microbiological evidence for Fe(III) reduction on early Earth [J]. *Nature*, 1998, 395: 65-67.